

- For more records, click the Records link at page end.
- To change the format of selected records, select format and click Display Selected.
- To print/save clean copies of selected records from browser click Print/Save Selected.
- To have records sent as hardcopy or via email, click Send Results.

<input checked="" type="checkbox"/> Select All	<input type="checkbox"/> Clear Selections	<input type="button" value="Print/Save Selected"/>	<input type="button" value="Send Results"/>	<input type="button" value="Display Selected"/>	Format Free
--	---	--	---	---	----------------

1. ☐ 16/5/1 DIALOG(R)File 352:Derwent WPI (c) 2005 Thomson Derwent. All rts. reserv.

009921197 \*\*Image available\*\*

WPI Acc No: 1994-188908/199423

XRAM Acc No: C94-086287

Agent for preventing and curing cerebral infarction and haemorrhage - contains haptoglobin which retards cerebral haemorrhage and mitigates nervous symptoms after e.g. ischaemic brain vessel affection

Patent Assignee: TAKEDA CHEM IND LTD (TAKE )

Number of Countries: 001 Number of Patents: 002

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
JP 6128173	A	19940510	JP 93174270	A	19930714	199423 B
JP 3537844	B2	20040614	JP 93174270	A	19930714	200439

Priority Applications (No Type Date): JP 92236935 A 19920904

Patent Details:

Patent No	Kind	Lan Pg	Main IPC	Filing Notes
JP 6128173	A	5	A61K-037/02	
JP 3537844	B2	5	A61K-038/00	Previous Publ. patent JP 6128173

Abstract (Basic): JP 6128173 A

An agent for preventing and curing cerebral infarction and/or haemorrhage, contains haptoglobin.

Pref., the agent is an injection.

Also claimed is a curative agent contg. haptoglobin for cerebral infarction and/or a haemorrhage.

ADVANTAGE - The agents cerebral haemorrhage and mitigates nervous symptoms after haemorrhagic or ischaemic brain vessels affection.

In an example, the human haptoglobin was dialysed with physiological salt water; and the residual liq. was conc. to a protein concn. of 3.3%, filtered to remove bacteria and used as an injection formulation. The haptoglobin was administered to 10-week-old male cerebral haemorrhage-vulnerable spontaneous-hypertension rats subjected to feed of water contg. 1% NaOH so as to induce cerebral haemorrhage, every 24 hrs. for two weeks. Rats in the plasma of which the haptoglobin was detected in a concn. of at least 1 mg/ml showed no nervous symptoms, while others showed such symptoms including death.

Dwg. 0/2

Title Terms: AGENT; PREVENT; CURE; CEREBRAL; INFARCTION; HAEMORRHAGE; CONTAIN; HAPTOGLOBIN; RETARD; CEREBRAL; HAEMORRHAGE; NERVE; SYMPTOM; AFTER; ISCHAEMIC; BRAIN; VESSEL; AFFECT

Derwent Class: B04

International Patent Class (Main): A61K-037/02; A61K-038/00

International Patent Class (Additional): A61K-009/08; A61P-009/00;

A61P-025/28

File Segment: CPI

Derwent WPI (Dialog® File 352): (c) 2005 Thomson Derwent. All rights reserved.

<input checked="" type="checkbox"/> Select All	<input type="checkbox"/> Clear Selections	<input type="button" value="Print/Save Selected"/>	<input type="button" value="Send Results"/>	<input type="button" value="Display Selected"/>	Format Free
--	---	--	---	---	----------------

© 2005 Dialog, a Thomson business

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-128173

(43)公開日 平成6年(1994)5月10日

(51)Int.Cl.<sup>5</sup>

A61K 37/02

識別記号

ABN

AAM

庁内整理番号

8314-4C

FI

技術表示箇所

9/08

F 7329-4C

審査請求 未請求 請求項の数3(全5頁)

(21)出願番号 特願平5-174270

(22)出願日 平成5年(1993)7月14日

(31)優先権主張番号 特願平4-236935

(32)優先日 平4(1992)9月4日

(33)優先権主張国 日本(JP)

(71)出願人 000002934

武田薬品工業株式会社

大阪府大阪市中央区道修町四丁目1番1号

(72)発明者 小林 真

兵庫県神戸市西区春日台2丁目12番26号

(72)発明者 今本 哲治

奈良県北葛城郡新庄町新庄6番地

(72)発明者 加藤 光一

兵庫県川西市美山台2丁目4番地の9

(74)代理人 弁理士 岩田 弘 (外5名)

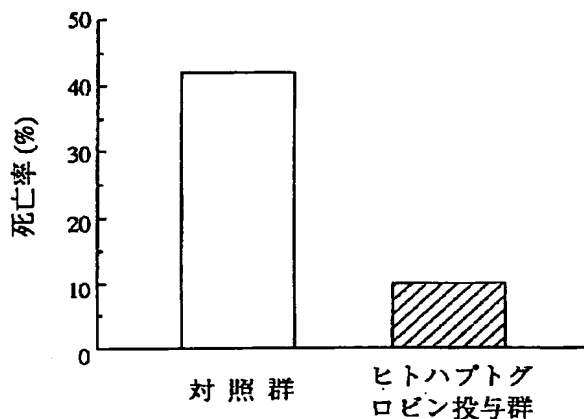
(54)【発明の名称】 脳梗塞および/または脳出血の予防治療剤

(57)【要約】

【目的】脳梗塞および/または脳出血の予防治療剤を提供する。

【構成】ハプトグロビンを含むことを特徴とする脳梗塞および/または脳出血の予防治療剤を作製した。

【効果】本発明製剤は、脳梗塞および/または脳出血の予防、治療に有用である。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】ハプトグロビン含有することを特徴とする脳梗塞および／または脳出血の予防治療剤。

【請求項2】注射剤である請求項1記載の予防治療剤。

【請求項3】ハプトグロビン含有することを特徴とする脳梗塞および／または脳出血の治療剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、ハプトグロビン含有する脳梗塞および脳出血の予防治療剤に関する。

## 【0002】

【従来の技術】脳卒中は、脳出血、脳梗塞、くも膜下出血などの脳血管障害の総称である。現在わが国ではこれらの脳血管障害は、癌、心疾患について死因の第3位を占めている。脳卒中の病型においては以前は高血圧性脳出血が主力を占めていたが、最近では重症例は目立って減少し、代わって脳梗塞が相対的に増加してきている。現在では脳卒中患者の老齢化が進み、後遺症に悩む老人や血管性痴呆患者の増加が社会問題と成りつつある。脳卒中における危険因子としては高血圧症、不整脈、高脂血症、糖尿病などが指摘されているが、脳卒中のおこるメカニズムはいまだに不明である。脳卒中急性期の薬物療法としては抗血小板剤、抗凝固剤、微小循環改善剤、血栓溶解剤などが用いられ、重篤な患者に対しては外科的手術が行われる。慢性期には、抗血小板療法、抗凝固療法、脳循環改善療法、脳代謝賦活療法などが行われ、また再発の防止には高血圧等の危険因子を取り除くことなどがおこなわれている。

【0003】ハプトグロビンは血漿中に約30-190 mg/dlの濃度で存在する糖蛋白質である。ハプトグロビンの生理作用に関しては、オキシヘモグロビンとの結合による代謝や免疫抑制作用などが報告されている。特にハプトグロビンがオキシヘモグロビンの代謝に関与することから溶血性腎臓障害の治療薬および対外循環路形成時におけるヘモグロビンの除去剤として用いられている。さらに、ハプトグロビンの血清型と全身動脈血圧とが相関すること、ハプトグロビンが内皮細胞由来血管弛緩因子(EDRF)の阻害物質であるヘモグロビンの代謝に関わること【カルディオバスキュラーリサーチ(Cardiovascular Research), 第20巻, 549-556頁, (1986)】、妊娠子癇前症において血漿中のハプトグロビンの消失を知ることが予後の診断に役立つこと【ランセット(LANCET), 第336巻, 1030-1032頁(1990); LANCET, 第336巻, 1594頁(1990)】が知られている。ハプトグロビンは上述の生理作用を有し、種々の病態において量的変動を招来することが知られているが、現在のところハプトグロビンの投与による脳梗塞および脳出血の予防治療に関する報告は見あたらない。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】脳血管障害は、発症後

種々の後遺症を惹起することから、発症後の神経症状を軽減させることは患者の社会生活への復帰に非常に重要である。従来、上記の療法による治療が行われているが、生体が本来治癒するために用いている未知の内在性防御機構を明らかにし、それに関与する生理活性物質を治療に用いることができればより望ましいことはいくまでもない。さらに、先に述べた危険因子を有する患者の脳卒中の発症をなんらかの方法で予測することができれば、早期に適切な処置を行い発症の予防が可能となるのでそのような方法が望まれている。

## 【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは血漿中のハプトグロビンが脳出血および脳梗塞の発症と前後して血漿中から消失するという新事実を見だし、さらに鋭意研究を重ねた結果、該蛋白質が脳卒中の発症を予防することを見出した。さらに発明者らは、血漿中のハプトグロビンを定量することが、脳梗塞および脳出血の予測および予後の診断において極めて有効であることを見だし本発明を完成した。

【0006】すなわち、本発明はハプトグロビンを有効成分として含有する脳梗塞および脳出血の予防および治療剤を提供するものである。本発明に用いられるハプトグロビンとしては、ヒト、サル、ブタ、ウシ、ラットなどいずれの哺乳動物のものでもよいが、投与対象動物由来のものを使用するのが好ましい。また天然型でも遺伝子工学を用いて造られた組換え型のものでもよく、さらにそれらを改変したムテインや、ハプトグロビン活性を有するペプチド断片でもよい。天然型ヒトハプトグロビンは常法により血漿からコーンのエタノール分画法【J. E. Cohn ら, ジャーナル オブ ザ アメリカン ケミカル ソサエティ (J. Am. Chem. Soc., 第68巻, 459頁(1946))】で得られる分画 IV より調製される。また、ヘモグロビンを固定化したアフィニティークロマトグラフィー【バイオケミカルアンド バイオフィジカル リサーチ コミュニケーション (Biochem. Biophys. Res. Commun.) 第52巻, 774-778頁(1973)】を用いてさらに精製してもよい。ヒトハプトグロビンには Hp 1-1, Hp 2-1, および Hp 2-2 の3種の血清型が存在し、たとえば日本人における存在比は、それぞれ6.47%, 35.2%, 57.4%であるが、本発明においては各種の血清型を単独で用いてもよく、また種々割合で混合した混合物として用いてもよい。また、本発明における予防治療剤は既知の脳梗塞および脳出血の予防治療薬と併用してもよい。

【0007】本発明の対象疾患は、脳梗塞および脳出血、さらにそれらに起因する脳血管性痴呆、脳血管もやもや病等の脳血管障害疾患である。また、ヒトの疾患のみならずイヌ、ネコなどの哺乳動物の脳出血および脳梗塞の予防治療にも用いることができる。本発明の予防治療剤を投与することにより、高血圧性の脳出血の発症が

遅延または軽減され、また脳梗塞および脳出血による神経症状が軽減され死亡率の低下がみられることから、これらの疾患の予防および後遺症の治療に特に有効である。脳梗塞および脳出血の予防の目的で本剤を使用する場合としては、これらの危険因子を有する人あるいは動物、たとえば高血圧者あるいは脳梗塞もしくは脳出血の再発の恐れのある人を対象に、血圧測定ならびにハプトグロビン定量を含めた血液検査を実施し、ハプトグロビン値が正常値より著しく低下している（約30mg/dl以下）場合には、ハプトグロビンを後述の如く点滴静注し、その後、血中ハプトグロビンの追跡調査を行い適宜投与量を調整することによって、予防の効果があげられる。脳出血もしくは脳梗塞を発症した患者において治療の目的で本剤を使用する場合には、緊急時ハプトグロビン定量を含めた血液検査を行い、ハプトグロビン量の低下ないし消失を確認したのち可及的早急にハプトグロビンを持続点滴静注し、その後、血中ハプトグロビンの追跡調査を行い適宜投与量を調整し、正常値になるように投与する。本発明の有効成分であるハプトグロビンは健康人の血漿中に約30-190 mg/dlの濃度で存在する内在性の因子であり、本薬剤の投与により副作用が出現しにくいのが特徴である。ハプトグロビンが脳梗塞および脳出血の症状を緩和する機構は必ずしも明らかではないが、該蛋白質の生理活性から考えると内皮細胞由来血管弛緩因子の阻害剤であるオキシヘモグロビンの除去、脳血管内皮細胞の保護、腎臓の保護による脳循環の改善などによるものと推察される。また、動物モデルを用いた実験から、脳出血の神経症状の発症に先立ち血漿中のハプトグロビンが消失すること、また脳梗塞および脳出血の急性期および慢性期において血漿中のハプトグロビンが消失し、薬剤投与等の治療により症状が軽減する際にハプトグロビンの再出現が見られることなどから血漿中のハプトグロビンを測定することはこれらの疾患の予測および予後の診断にきわめて有効である。

【0008】本発明で用いられる脳梗塞および脳出血の予防治療剤は、ハプトグロビンを単独で、または他の薬理学的に許容されうる担体、賦形剤、希釈剤とともに医薬組成物（例、注射剤、錠剤、カプセル剤、液剤、軟膏）として、温血動物（例、ヒト、マウス、ラット、ハムスター、ウサギ、犬、ネコ）に対してそれらの脳梗塞および脳出血の予防または治療を目的として非経口的または経口的に安全に投与することができる。とりわけ、非経口的に投与することが好ましく、該非経口的製剤としては、たとえば、注射剤、注射投与に用いるための溶液、凍結品もしくは凍結乾燥品などの形態にするのが好ましい。

【0009】医薬組成物としての製剤化にあたっては、公知の製剤学的製造法に準じ、所望により製剤学的に許容され得る添加剤、希釈剤、賦形剤などを用いる。たとえば、注射用水溶液剤とする場合は、水性溶剤（例、蒸

留水）、水溶性溶剤（例、生理的食塩水、リンゲル液）、油性溶剤（例、ゴマ油、オリーブ油）等の溶剤、または所望により溶解補助剤（例、サリチル酸ナトリウム、酢酸ナトリウム）、緩衝剤（例、クエン酸ナトリウム、グリセリン）、等張化剤（例、ブドウ糖、転化糖）、安定剤（例、ヒト血清アルブミン、ポリエチレングリコール）、保存剤（例、ベンジルアルコール、フェノール）、無痛化剤（例、塩化ベンザルコニウム、塩酸プロカイン）等の添加剤を用いて、常套手段により製造される。また、たとえば固型状注射用製剤とするには希釈剤（例、蒸留水、生理的食塩水、ブドウ糖）、賦形剤（例、カルボキシメチルセルロース（CMC）、アルギン酸ナトリウム）、保存剤（例、ベンジルアルコール、塩化ベンザルコニウム、フェノール）、無痛化剤（ブドウ糖、グルコン酸カルシウム、塩酸プロカイン）等を混合し、常套手段により、固型状注射用製剤に製造することができる。さらに、製剤化にあたっては、ブドウ糖などの単糖類や、アミノ酸、各種塩類、ヒト血清アルブミンなどを添加しても良く、その他に等張化剤、pH調節剤、無痛化剤、防腐剤などを加えて安定で有効な本発明製剤を調製することができる。

【0010】本発明の脳梗塞および脳出血の予防治療剤の投与量としては、ハプトグロビンが完全に消失している重篤な症状の投与対象を含め、生体の体液中、例えば血漿中に分布する量として約0.1~1.0mg/mlとなる量、さらに好ましくは予防を目的とする場合には約0.3~3.0好ましくは約1.0~3.0mg/mlとなる量を、また治療を目的とする場合には約0.4~6.0好ましくは約2.0~6.0mg/mlとなる量を投与するのが好ましい。該投与量としては、投与するときの量が体重あたり約10~2000mg/kgである量が挙げられる。本発明の脳梗塞および脳出血の予防治療剤を非経口的に投与する場合の投与経路としては、たとえば、静脈内投与、皮下投与、筋肉内投与あるいは経粘膜投与などが挙げられる。経粘膜投与の経路としては、経鼻、口腔内あるいは直腸などが挙げられる。本発明の予防治療剤は、温血動物の全身的に薬物が存在するように投与するのが好ましい。したがって、脳に直接投与するよりも、たとえば循環器系に投与するのが好ましい。特に、静脈内投与が好ましい。本製剤の投与に際しては、一定の投与量を1日1~数回定期的に投与してもよいし、間歇的にたとえば1週間に1回程度投与する方法も挙げられる。また、点滴静注等の点滴注入法も本剤の臨床投与において有効に用いられる。

【0011】参考例1 ヒトハプトグロビンの調製法  
ヒト血漿からコーンのエタノール分画法で得られる分画IV（フラクションIV）を用い、飽和度30-45%の条件下に硫酸分画を繰り返した後、QAE SephadexA50（商標）（ファルマシア社）カラムクロマトグラフィーでハプトグロビンを精製した。

# 参考例2 ラットハプトグロビンの調製法

ウシヘモグロビンをホルミルセルロファイン（商標）（生化学工業社）に7 mg/ml で結合させて調製したカラムにラットの血漿を負荷し1 M グアニジン塩酸を含む緩衝液でカラムを洗浄後、0.1 M グリシン塩酸緩衝液（pH 2.5）でラットハプトグロビンを溶出した。溶出画分をDEAE-5PW（商標）（Tosoh 社）カラムクロマトグラフィーで精製した。

# 参考例3 ハプトグロビンの測定法

ハプトグロビンをウサギ（日本白色種）に常法にしたがって投与し、抗血清を調製した。抗血清を調製に使用した動物種のハプトグロビン標品を固定化して調製したカラムを用いたアフィニティークロマトグラフィーに付し、特異抗体を調製した。特異抗体に西洋ワサビペロオキシダーゼを文献〔免疫生化学研究法、東京化学同人、（1986）〕に記載の方法で結合させ2次抗体を調製し、同文献記載のサンドイッチ ELISA 法によりハプトグロビンを測定した。

# 参考例4 実験的な脳虚血モデルにおける血漿中ハプトグロビンの変動

SHRSP（雄性：11週齢）の両側総頸動脈をクリップにより閉塞し、痙攣発症15分後クリップを解除することにより実験的な脳虚血を生じさせた。虚血前、再灌流直前および再灌流1時間後の計3時点で血漿中ハプトグロビン濃度を測定し、再灌流1日後の生死を観察した。その結果を再灌流1日後の生存例と死亡例に分けて、虚血前値に対する相対値として〔図1〕に示した。

〔図1〕から明らかなように全ての個体において脳虚血により血漿中ハプトグロビン濃度が虚血前値に比し著明に減少した。さらに再灌流1日以内に死亡した個体の血漿中ハプトグロビン濃度は、再灌流直前および再灌流1時間後のいずれの時点においても再灌流1日後の時点で生存していた個体より統計的に有意に低値を示した（t検定  $p<0.001$ ）。これらの結果より、脳虚血に伴う神経症状の重篤度と血漿中ハプトグロビン濃度減少の間に明らかな相関がみられた。

## 【0012】実施例1 注射剤の製造

ヒト血漿中より参考例1に記載の方法により精製されたハプトグロビンを生理食塩水に対して透析した。透析内液を蛋白質濃度3.3%になるように濃縮し、濾過除菌した後、注射用製剤として使用した。

## 実施例2 高血圧性脳出血の予防

10週齢の雄性脳卒中易発性自然高血圧ラット（SHRSP）15頭に飲用水として1%食塩水をあたえ脳出血を惹起する系において、ヒトハプトグロビンを165 mg/kg/マウスずつ24時間ごとに2週間連続して腹腔内投与した。2週後に血漿中のヒトハプトグロビンを測定した。1 mg/ml 以上の濃度で血漿中にハプトグロビンが認められた個体（3頭）のうち2頭は神経症状を全く呈さず、残りの1頭も軽い神経症状を示したのみで死亡例はな

かった。一方、血中にハプトグロビンの認められなかった個体（12頭）のうち11頭において何らかの神経症状が認められ、7頭が死亡した。以上の成績からヒトハプトグロビンの高血圧性脳出血における予防効果が示唆された。

## 実施例3 脳梗塞の治療

SHRSP（雄性：11週齢）の両頸動脈をクリップにより閉塞し、けいれんがおきて10分後にクリップを解除し実験的な脳虚血を生じさせる。再還流直後よりヒトハプトグロビンを165 mg/kg で6時間ごとに腹腔内に連続投与した。ヒトハプトグロビン投与群は対照群に比べ有意に死亡率が低く、また神経症状も改善されていた。以上のことからヒトハプトグロビンの脳梗塞における治療効果が示唆された。

## 実施例4 脳梗塞の治療

SHRSP（雄性：11週齢）の両側総頸動脈をクリップにより閉塞し、痙攣発症15分後クリップを解除することにより実験的な脳虚血を生じさせた。ヒトハプトグロビンを165 mg/kgで再灌流直後および5時間後の計2回静脈内に投与した。再灌流直後から7日後まで神経症状に対し〔表1〕に示した基準に従い評点を記録し、さらに再灌流7日後の死亡率を求めた。その結果を〔表2〕および〔図2〕に示す。〔表2〕より明らかな様に、対照群に比し、ヒトハプトグロビン投与群は神経症状の改善がみられた。さらに〔図2〕に示した再灌流7日後の死亡率については、対照群が42%であったのに対しヒトハプトグロビン投与群は10%と明らかに死亡率の低下がみられた。以上のことからヒトハプトグロビンの静脈内投与による脳梗塞治療効果が明確になった。

【0013】

【表1】

評点	神経症状
0	正常
1	やや興奮
2	明らかに興奮
3	前肢麻痺
4	前肢および後肢麻痺
5	正向反射の消失
6	立毛と震え
7	痙攣
8	昏睡
9	死亡

【0014】

【表2】

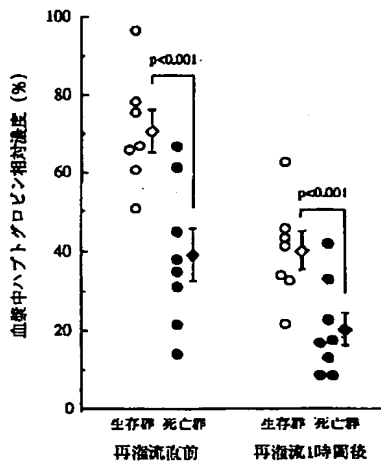
	神経症状の平均評点	
	対照群	ヒトハプトグロビン投与群
5時間後	3.1	2.7
1日後	3.8	3.3
3日後	5.4	2.9
7日後	5.0	3.3

## 【0015】

【発明の効果】本発明のハプトグロビンを含む医薬製剤を投与することにより脳出血発症が遅延し、出血性または虚血性脳血管障害後の神経症状が軽減され死亡率の低下がみられることから、本薬剤は脳梗塞および脳出血の予防治療剤として有用である。

## 【図面の簡単な説明】

【図1】



【図1】は、SHRSPを用いた実験的な脳梗塞に対して再灌流1日後の時点において生存した7例（生存群）と死亡していた8例（死亡群）に分けて、再灌流直前および再灌流1時間後の各個体の血漿中ハプトグロビン濃度の虚血前値に対する相対値および各群の平均相対値を示した図である。

【図2】は、SHRSPを用いた実験的な脳梗塞に対する対照群およびヒトハプトグロビン投与群の再灌流7日後の死亡率を示した図である。

10

## 【符号の説明】

○は生存群の各個体の血漿中ハプトグロビン相対濃度（％）を、●は死亡群の各個体の血漿中ハプトグロビン相対濃度（％）を、◇は生存群の平均各個体の血漿中ハプトグロビン相対濃度（％）を、◆は死亡群の平均各個体の血漿中ハプトグロビン相対濃度（％）をそれぞれ示す。

【図2】

